Microscopía electrónica de barrido del aparato bucal y cavidad bucofaríngea de la larva de *Atelognathus nitoi* (Anura, Leptodactylidae)

Dinorah D. ECHEVERRÍA*, Carmen A. ÚBEDA** & Néstor G. BASSO***

* Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Vertebrados, 1428 Buenos Aires, Argentina

** Centro Regional Bariloche, Universidad Nacional del Comahue, Unidad Postal Universidad, R 8400 FRF, Provincia de Río Negro, Argentina

*** Departamento Zoología Vertebrados, Museo de La Plata, Paseo del Bosque, 1900 La Plata, Argentina

Larvae of *Atelognathus nitoi* were collected in the Province of Río Negro (Argentina). The microanatomy of the oral apparatus and of the buccopharyngeal cavity of these tadpoles is described with scanning electron microscope and observed with stereoscopic microscope. The buccal apparatus has short labial teeth formed by a short base, a short neck, and a multicusped paddle with 10-12 short denticles. The horny beak is wider than high and the teeth are unicusped. The bucopharingeal cavity has two pairs of infralabial papillae and four lingual papillae, the median ridge is triangular, the lateral ridges are simple, the ventral velum and the glandular zone are present at the posterior side. The intestinal contents consist of cysts and scales of algae (Chrysophyta, Chrysophycea), frustula of diatoms and fungi.

INTRODUCCIÓN

Atelognathus nitoi (Barrio, 1973) es un leptodactílido microendémico de la Laguna Verde del Cerro Challhuaco (Parque Nacional Nahuel Huapi), ubicado en el noroeste de la patagonia argentina. De las ocho especies de *Atelognathus* reconocidas, hasta el presente sólo fueron descriptas las larvas de *Atelognathus patagonicus* (Gallardo, 1962) (CEI, 1965), *Atelognathus reverberii* (Cei, 1969) (CEI, 1969) y *Atelognathus nitoi* (BASSO & ÚBEDA, 1997), y la microanatomía de la cavidad bucofaríngea de las dos primeras species fue descripta por WASSERSUG & HEYER (1988). La larva de *A. nitoi*, recientemente descripta (BASSO & ÚBEDA, 1997), se desarrolla en la citada laguna y en ocasiones en ambientes temporarios cercanos. En sus primeras semanas de vida, los renacuajos habitan las playas de la laguna y muestran un hábito nadador. A medida que crecen se internan en la parte más profunda de la laguna,

Source : MNHN, Paris

Tabla 1. Larvas de *Atelognathus nitoi*: material estudiado del Parque Nacional Nahuel Huapi, Argentina.

N° ejemplar	113	114	115	181	189	190	214	218
Estadio	31	26	31	26	27	31	27	37
Localidad (Laguna)	sin nombre	Verde	sin nombre	Verde	Verde	sin nombre	Verde	Los Patos

manteniendo el hábito nadador y frecuentando el fondo (Úbeda et al., 1999). Durante el período premetamórfico presentan un morfotipo adaptativo léntico-béntico (Basso & Úbeda, 1997).

El propósito de este trabajo es describir el aparato bucal y la cavidad bucofaríngea de *A. nitoi* mediante observaciones con microscopio electrónico de barrido, discutir sus relaciones ecomorfológicas y comparar con las otras especies conocidas de *Atelognathus* y con géneros afines.

Material y métodos

Las larvas estudiadas provienen de la Laguna Verde (localidad tipo de la especie) y de ambientes acuaticos temporarios vecinos, ubicados en un bosque de lenga (*Nothofagus pumilio*) entre 1350 y 1550 m s.n.m, en el Cerro Challhuaco, Parque Nacional Nahuel Huapi, provincia de Rio Negro, Argentina. Las larvas fueron capturardas con redes de mano y fijadas in toto en formol 10 %. Siete ejemplares (N°113-115, 181, 189-190 y 214, Colección Larvas DDE, para Microscopio electrónico de barrido, tab. 1) corresponden a los estadios 26 al 31 de la tabla de desarrollo de Gosner (1960). Se disecó un ejemplar en estadio 37 (ejemplar N°218, lote 206, Comahue, tab. 1) para comparar el desarrollo de la papilación bucofaríngea con los estadios menores.

Las observaciones en microscopio electrónico de barrido se realizaron tratando al material según las técnicas propuestas por Wassersug (1980) y Echeverria (1995), efectuándose una deshidratación rapida en alcohol etílico (80 %, 8 h; 96 %, 2 h, 100 %, 1 h), en alcohol etílico-acetona (3:1, 1 h; 1:1, 1 h; 1:3, 10h) y en acetona pura, como máximo dos horas antes de proceder a la desecacion final. Se efectuó el punto crítico de desecación en un secador al vacío Balzers 030. La metalización se realizó con oro en un metalizador ION Sputtering Balzers CPD 040. Las observaciones y fotografías se realizaron en un microscopio electrónico de barrido Philips 505. El punto crítico de desecación se efectuó en un secador al vacío Balzers CPD 030. La metalizacion se efectuó con oro en un metalizador Balzers SCD 040. Las descripciones de las formaciones corneas del aparato bucal y cavidad bucofaríngea se realizaron según la terminología propuesta por Dunef & Beaumont (1959), Viertel (1982) y McDiarmid & Altig (1999). La fórmula dentaria se expreso siguiendo la propuesta de Dubois (1995).

Source : MNHN, Paris

El contenido intestinal de las larvas fue examinado en diferentes estadios de desarrollo (26, 27 y 31) a fin de relevar en forma cualitativa los diferentes ítems alimentarios y sus características ecológicas.

Las ilustraciones fueron realizadas con un microscopio estereoscópico Nikon SMZ 10 TD, provisto de cámara de dibujo.

RESULTADOS

APARATO BUCAL

El disco oral es emarginado y con un amplio claro rostral. Está limitado lateralmente por una hilera de papilas marginales cónicas y simples y por papilas submarginales similares, bien desarrolladas, en las regiones supraangular e infraangular (fig. 1a-b). A nivel del cartílago de Meckel pueden observarse 2 papilas angulares intramarginales bajas (fig. 1c). Las papilas mentales son cónicas, alargadas, con el extremo agudo, extendiéndose en una hilera simple (fig. 1d).

Los queratodontes forman una hilera continua y homogénea, el numero de dientes en un ejemplar correspondiente al estadio 31 es de aproximadamente 5 a 7 en 100 μm. Están formados por una base, un cuello y una espátula con 10 a 12 dentículos cortos. La longitud total de un diente labial es 25 a 30 μm, con un ancho máximo de la espátula de 15 μm (fig. 1e). Los dientes del pico córneo están organizados en empalizada, con una densidad de 5 dientes en 100 μm; presentan un largo total de aproximadamente 25 a 30 μm y un ancho máximo de 20 μm (fig. 1f).

CAVIDAD BUCOFARÍNGEA

Piso

La región prelingual presenta cuatro papilas infralabiales, dos ventrales y dos laterales. Sobre el esbozo lingual se desarrollan cuatro papilas linguales simples; las papilas centrales son más largas y mas cercanas al borde lingual anterior que las laterales (fig. 2a). La arena del piso de la cavidad oral esta limitada lateral y posteriormente por papilas periféricas bien desarrolladas. En el estadio 31 las papilas son más abundantes que en los estadios 26 y 27 (fig. 2b).

Las hendiduras bucales son alargadas y están ubicadas transversalmente con respecto a la línea media. El área lateral interna de la prehendidura está precedida por proyecciones laminares, cuyos extremos digitiformes se dirigen hacia el interior de la cavidad bucofaríngea. Estas presentan los bordes rugosos y se destacan del resto de las papilas por su mayor desarrollo. Cercanas al borde anterior de la hendidura se observan 1 a 3 papilas bajas (fig. 2b). El velo ventral tiene 4 a 5 proyecciones marginales pronunciadas y espaciadas a ambos lados de la escotadura mediana. Las proyecciones que forman la escotadura son pronunciadas y le

Source : MNHN, Paris

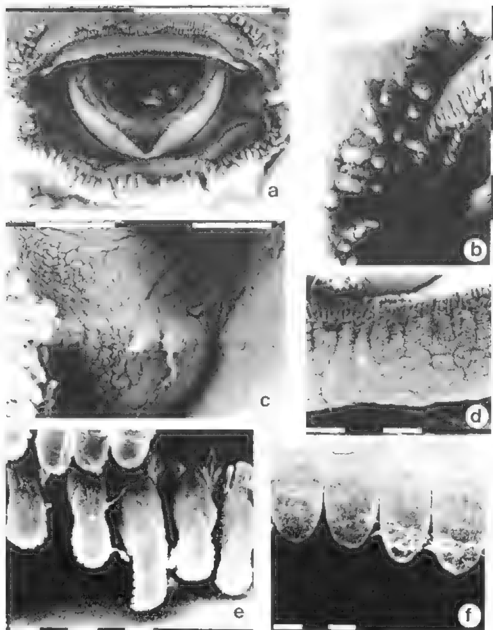


Fig. 1. Aparato bucal de *Atelognathus nitoi* (estadio 31). (a) Vista general. Escala: 1 mm. (b) Detalle de las papilas del disco oral. Escala: 0,1 mm. (c) Detalle de las papilas angulares intramarginales del disco oral. Escala: 0,1 mm. (d) Papilas mentales del disco oral. A, papilas mentales. Escala: 0,1 mm. (e) Dientes labiales en la hilera A-2. Escala: 10 µm. (f) Pico córneo. Escala: 10 µm.

Source : MNHN, Paris

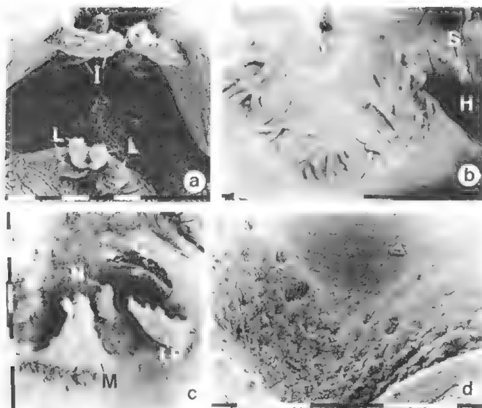


Fig 2 Cavidad bucofaríngea de *Atelognathus nitoi* (a) Piso, área prelingual I, papilas infralabiales, L, papilas linguales. Estadio 27 Escala: 0.1 mm. (b) Región posterior del piso. H, hendidura bucal derecha, P, papilas periféricas, S, tres papilas en el borde anterior de H. Estadio 31. Escala 1 mm (c) Techo C, coana, LP, pliegue lateral; M, pliegue mediano, N, papila postnasal. Estadio 26 Escala: 0,1 mm. (d) Región glandular posterior del techo. Estadio 31. Escala. 0,1 mm.

confieren a ésta forma de "V" El borde del velo y sus proyecciones presentan fosetas glandulares.

Cabe destacar que en un ejemplar en estadio 37 (de 73 mm de longitud total), las papilas infralabiales laterales presentaron bordes irregulares y las papilas linguales centrales se hallaron ramificadas.

Techo

Las coanas son de forma elíptica, convergentes anteromedialmente, protruyentes hacia la cavidad bucofaríngea En el área posnarial, en estadios 26 y 27, se halla un par de papilas postnasales (fig 2c) Los pliegues laterales son proyecciones simples, bien desarrolladas, con

Source : MNHN, Paris

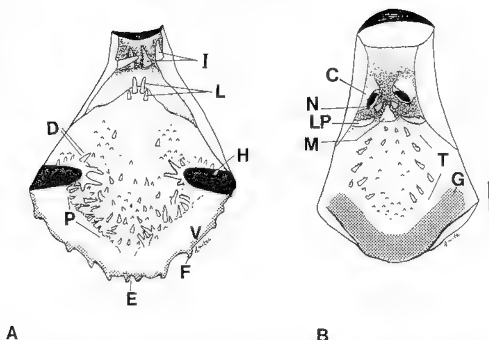


Fig. 3. – Morfología de la cavidad bucofaríngea de la larva de *Atelognathus nitoi* (estadio 31). (A) piso, (B) techo. C, coana; D, papilas prehendidura; E, escotadura mediana; F, proyección marginal; G, region glandular; H, hendidura bucal; I, papila infralabial; L, papilas linguales; LP, pliegue lateral; M, pliegue mediano; N, papila postnasal; P, papilas periféricas del área del piso de la cavidad bucofaríngea; T, papilas del margen del área del techo de la cavidad bucofaríngea; V, velo. Escala 1 mm.

forma de lámina comprimida en sentido anteroposterior, su borde ventral es irregular y el dorsal liso. El pliegue mediano tiene forma triangular, paredes lisas y bordes irregulares. Las papilas marginales de la arena del techo de la boca son escasas (de 5 a 6 pares), cónicas y altas; en la región posterior se hallan numerosas pustulas. El área glandular está muy desarrollada; se dispone en forma de banda en U abierta en los extremos; las fosetas glandulares presentan forma circular o irregular (fig. 2d). En el ejemplar 218, se hallaron dos pares de papilas postnasales de diferente tamaño, siendo el par mas externo de tamaño muy reducido.

En la figura 3 se reúnen las características típicas de la cavidad bucofaríngea de *A. nitoi* para el estadio 31.

Contenido intestinal

En dos ejemplares correspondientes a los estadios 26 y 27 (ejemplares 181 y 189), provenientes de la Laguna Verde, se hallaron quistes y escamas de algas (Chrysophyta, Chrysophycea) cuyo tamaño de partícula osciló entre 3 a 5 µm en los quistes y entre 10 a

Source : MNHN, Paris

12 µm en las espículas. Se hallaron frústulos de diatomeas (Bacillariophyceae, *Diploneis* sp., *Navicula* sp., *Cymbella* sp.) de largo máximo hasta 60 µm. Se observó, además, la presencia de hifas de hongos acuáticos (ejemplares 115, 181 y 189).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La larva de *Atelognathus nitoi* presenta una distribución de hileras de queratodontes que responde a la fórmula 1·<1>/<1>:2, tal como fuera observado por BASSO & ÚBEDA (1997). Este tipo de distribución de los dentículos córneos es muy frecuente entre las larvas de aguas quietas (ALTIG & JOHNSTON, 1989) y es compartida por la mayoría de los leptodactílidos telmatobiinos patagónicos: *Alsodes barrioi*, *A. gargola*, *A. monticola*, *Atelognathus patagonicus*, *A. reverberii*, *Batrachyla antartandica*, *B. leptopus*, *B. taeniata*, *Caudiverbera caudiverbera* y *Hylorina sylvatica* (FORMAS & PUGÍN, 1978*a-b*; LAVILLA, 1988), con la excepción del genero *Eupsophus*, que presenta una reducción en el número de hileras de queratodontes asociada a una alimentación endotrófica (FORMAS & PUGÍN, 1978*a-b*; FORMAS, 1989*a-b*, 1992). Los queratodontes son relativamente cortos en relación con los dientes de otros leptodactílidos de ambientes lénticos conocidos, como los observados en *Odontophrynus americanus* y *Leptodactylus ocellatus* (ECHEVERRÍA & MONTANELLI, 1992; ECHEVERRÍA, 1995).

En cuanto a la papilación del disco, *A. nitoi* presenta escasas papilas suprangulares e infrangulares con una distribución irregular, y papilas mentales. Las papilas marginales mentales son alargadas y se disponen en una hilera limitando al disco por su parte posterior, confirmando lo indicado por LAVILLA (1988) para el género *Atelognathus*. El disco oral de *A. nitoi* se distingue del de *Alsodes gargola* por presentar una hilera de papilas mentales marginales, a diferencia del género *Alsodes*, que tiene dos hileras mentales, una marginal y otra intramarginal, cada una con distinta morfología (ECHEVERRÍA et al., 2001). En la zona angular intramarginal de *A. nitoi* se observan dos papilas poco desarrolladas ubicadas a nivel del cartílago de Meckel. Éstas son las únicas papilas en la zona angular que se hallan en posición intramarginal, aisladas y ubicadas más internamente que las restantes papilas submarginales.

La cavidad bucofaringea presenta características anatómicas comunes con otros leptodactílidos. *Atelognathus nitoi* comparte con las larvas de los leptodactílidos de los géneros *Alsodes*, *Atelognathus*, *Batrachyla*, *Caudiverbera*, *Hylorina*, *Pleurodema* y *Odontophrynus* (BRIEVA VÁSQUEZ, 1988, WASSERSUG & HEYER, 1988) la presencia de cuatro papilas linguales y cuatro papilas infralabiales. Cabe destacar que las características atribuidas a *Eupsophus roseus* por WASSERSUG & HEYER (1988) no son consideradas en este trabajo debido a la identidad dudosa del especimen KU 162057, inferida a partir de las notas de campo sobre el hábitat, la coloracion y el tamaño del ejemplar. La morfología de la cavidad bucofaringea de *Atelognathus nitoi* coincide con la observada en *A. patagonicus* y *A. reverberii* (WASSERSUG & HEYER, 1988) en cuanto a la presencia de cuatro papilas infralabiales, cuatro papilas linguales, un pliegue mediano triangular y pliegues laterales simples y bien desarrollados. Comparte con *Leptodactylus ocellatus* cuatro papilas linguales y la forma y textura de los bordes dorsal y ventral del pliegue lateral (ECHEVERRÍA, 1995).

Source : MNHN, Paris

Los telmatobinos patagónicos que poseen la misma fórmula dentaria que *A. nitoi* pueden hallarse en ambientes lóticos, lénticos, temporarios o permanentes. Sus características ecomorfológicas también son variadas, observándose formas bentónicas y nectónicas (Cei, 1980).

Al analizar el contenido intestinal de *A. nitoi*, se halló un rango muy amplio de ítems alimentarios (algas y hongos) con tamaños de partícula comprendidos entre 3 y 60 μm. De la observación con microscopio electrónico de barrido se amplían los ítems alimentarios previamente reportados por Úbeda et al. (1999), confirmándose la predominancia de algas planctónicas y perifíticas en el contenido intestinal de *A. nitoi*.

La morfología del aparato oral y de la cavidad bucofaríngea observada en *Atelognathus nitoi* presenta características coincidentes con las reportadas para otras especies del género *Atelognathus*. Los caracteres compartidos con otros géneros de telmatobinos patagónicos, de hábitos diferentes, deben atribuirse fundamentalmente a una restricción filogenética dada por ancestralidad común, prevaleciendo sobre las adaptaciones ecológicas convergentes.

Resumen

Se describe la microanatomía del aparato bucal y la cavidad bucofaríngea de la larva de *Atelognathus nitoi* observada con microscopio electrónico de barrido y microscopio estereoscópico sobre especímenes colectados en la provincia de Río Negro (Argentina). El aparato bucal presenta dientes labiales relativamente cortos formados por una base y cuello cortos y una espátula multicuspidada, con 10 a 12 dentículos cortos. El pico córneo es más ancho que alto y los rostrodontos están organizados en empalizada, son unicuspidados con el extremo liso y agudo. La cavidad bucofaríngea tiene dos pares de papilas infralabiales, cuatro papilas linguales, el pliegue mediano es triangular, los pliegues laterales son proyecciones simples, velo ventral y área glandular en la parte posterior. En el contenido intestinal se encontraron principalmente quistes y escamas de algas (Chrysophyta, Chrysophysea), frústulos de diatomeas e hifas de hongos.

Agradecimientos

A la Administración de Parques Nacionales de Argentina por autorizar la realización de trabajos de campo en el Parque y Reserva Nacional Nahuel Huapi. A V. Conforti por asesorarnos en la determinación de las algas del contenido del tubo digestivo. A L. Trueb por permitirnos el acceso a las notas de campo relacionadas con el ejemplar KU 162057. A D. Jimenez del Servicio de Microscopía Electronica de Barrido dependiente del Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnicas de las Fuerzas Armadas (CITEFA). Este estudio fue financiado en parte con un subsidio para la investigación otorgado por la Agencia Nacional de Promocion Cientifica y Tecnologica (ANPCyT) de Argentina (BID 1201 / OC-AR, PICT 01-03698).

Source : MNHN, Paris

LITERATURA CITADA

ALTIG, R. & JOHNSTON, G. F., 1989. Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herp. Mon.*, **3**. 81-109.

BASSO, N. G. & ÚBEDA, C. A., 1997. The tadpole of *Atelognathus nitoi* (Leptodactylidae, Telmatobiinae). *Alytes*, **15** (3): 105-136.

BARRIO, A., 1973. Una nueva especie de *Telmatobius* (Anura, Leptodactylidae) procedente del dominio austral cordillerano argentino. *Physis*, (C), **32** (84): 207-213.

BRIEVA VÁSQUEZ, L. M., 1988. *Análisis morfologico comparativo de las larvas de las especies del género* Batrachyla (*Anura Leptodactylidae*). Tesis Magister, Universidad Austral de Chile, Valdivia 1-116.

CEI, J. M., 1965. The tadpole of *Batrachophrynus patagonicus* Gallardo. *Herpetologica*, **20** (4): 242-245.

----- 1969. The Patagonian telmatobiid fauna of the volcanic Somuncura plateau of Argentina. *J. Herp.*, **3** (1-2): 1-18.

----- 1980. – Amphibians of Argentina. *Monit. zool. ital.*, (n. s.), *Mon.* **2**: [i-xii] + 1-609.

DELUNFF, J. & BEAUMONT, A., 1959. – Histogénèse des dents et du bec cornés chez les larves de *Discoglossus pictus* Otth. *C. r. Soc. Biol.*, **153**: 1162-1164.

DUBOIS, A., 1995. - Keratodont formulae in anuran tadpoles: proposals for a standardization. *J. zool. Syst. Evol. Res.*, **33** (1): i-xv.

ECHEVERRÍA, D. D., 1995. Microscopía electrónica de barrido del aparato bucal y de la cavidad oral de la larva de *Leptodactylus ocellatus* (Linnaeus, 1758) (Anura, Leptodactylidae). *Alytes*, **12** (4): 159-168.

ECHEVERRIA, D. D. & MONTANELLI, S. B., 1995. Acerca del aparato bucal y de las fórmulas dentarias de *Odontophrynus americanus* (Duméril y Bibron, 1841) (Anura, Leptodactylidae). *Physis*, (B), "1992", **50** (118-119): 37-43.

ECHEVERRÍA, D. D., ALONSO, C. A., PILLADO, M. S., & ÚBEDA, C. A., 2001. Microanatomía del aparato bucal y cavidad bucofaríngea de la larva de *Alsodes gargola* Gallardo, 1970 (Leptodactylidae, Telmatobiinae). *Alytes*, **18** (3-4): 187-200.

FORMAS, J. R., 1989*a*. A new species of *Eupsophus* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from Southern Chile. *Proc. biol. Soc. Wash.*, **102** (3). 568-576.

----- 1989*b*. The tadpole of *Eupsophus calcaratus* in Southern Chile. *J. Herp.*, **23** (2): 195-197.

----- 1992. – The tadpole of *Eupsophus vertebralis* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica*, **48** (1): 115-119.

FORMAS, J. R. & PUGÍN, E., 1978*a*. Tadpoles of *Hylorina sylvatica*, *Eupsophus vittatus*, and *Bufo rubropunctatus* in southern Chile. *Herpetologica*, **34** (4): 355-358.

----- 1978*b*. Tadpoles of *Eupsophus roseus* and *Bufo variegatus* (Amphibia, Anura) in southern Chile. *J. Herp.*, 12 (2): 243-246.

GALLARDO, J. M., 1962. Los generos *Telmatobius* y *Batrachophrynus* (Amphibia, Leptodactylidae) en la Argentina. *Neotropica*, **8** (26). 45-58.

GOSNER, K. L., 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, **16**: 183-190.

LAVILLA, E. O., 1988. Lower Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae): generic diagnoses based on larval characters. *Occ. Pap. Mus. nat. Hist. Univ. Kansas*, 124: 1-19.

McDIARMID, R. W. & ALTIG, R., 1999. *Tadpoles. The biology of anuran larvae*. Chicago & London, The University of Chicago Press. [i-xiv] + 1-444.

ÚBEDA, C., ZAGARESE, H., DIAZ, M. & PEDROZO, F., 1999. First steps towards the conservation of the microendemic Patagonian frog *Atelognathus nitoi*. *Oryx*, **33** (1): 59-66.

VIERTEL, B., 1982. The oral cavities of central European anuran larvae (Amphibia). Morphology, ontogenesis and generic diagnosis. *Amphibia-Reptilia*, **4**: 327-360.

Source : MNHN, Paris

Wassersug, R. J, 1980 Internal oral features of larvae from eight anuran families. functional, systematic, evolutionary and ecological considerations. *Univ. Kansas Mus. nat Hist misc Publ*, **68**: 1-146

Wassersug, R. J & Heyer, W. R., 1988. A survey of internal oral features of leptodactyloid larvae (Amphibia: Anura). *Smithsonian Contr Zool*, **457**: 1-99.

Corresponding editor Esteban O. Lavilla

© ISSCA 2001

Source : MNHN, Paris